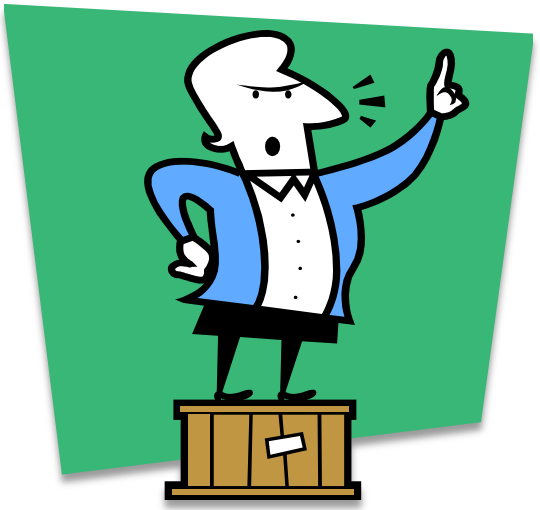
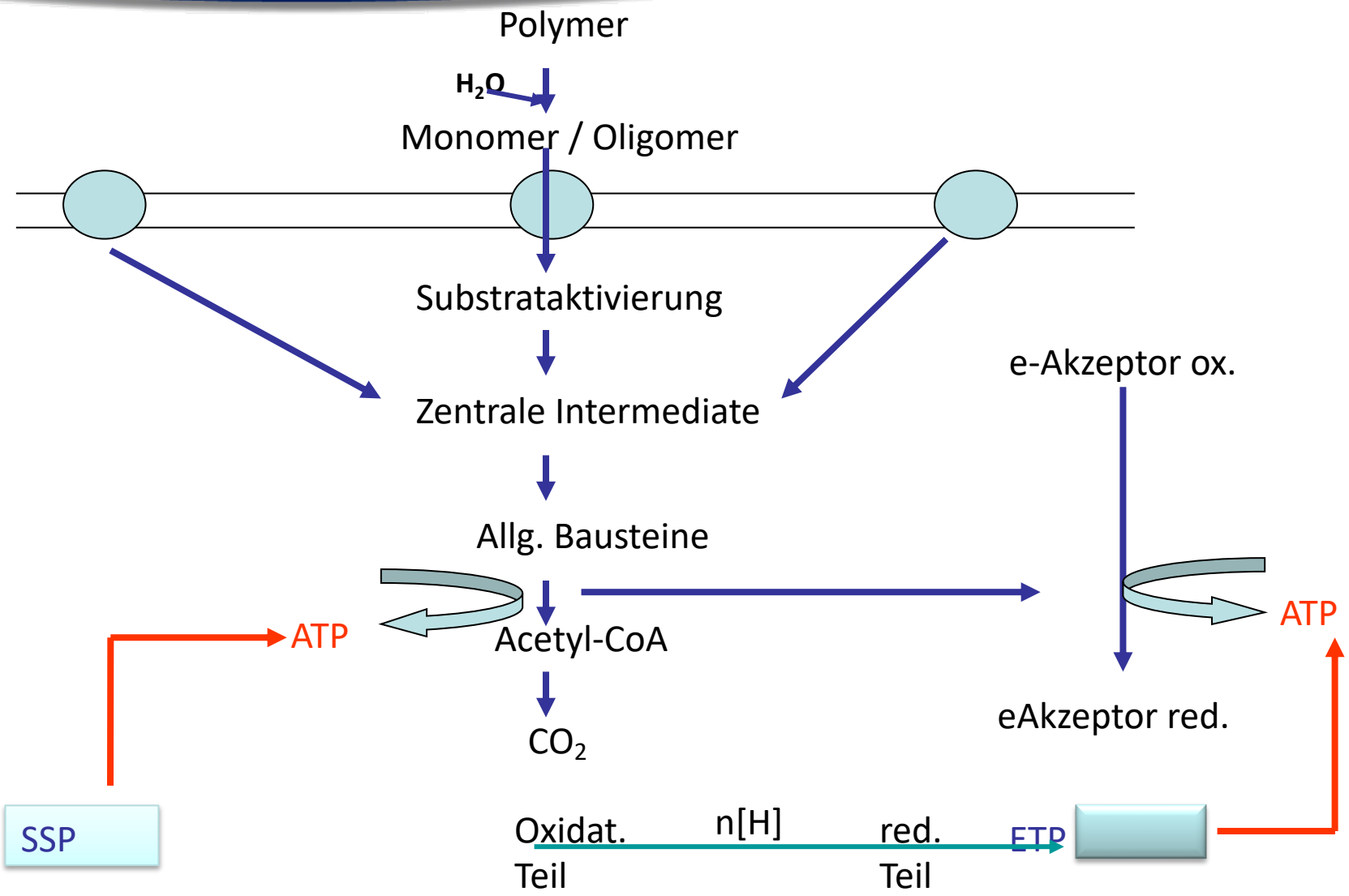
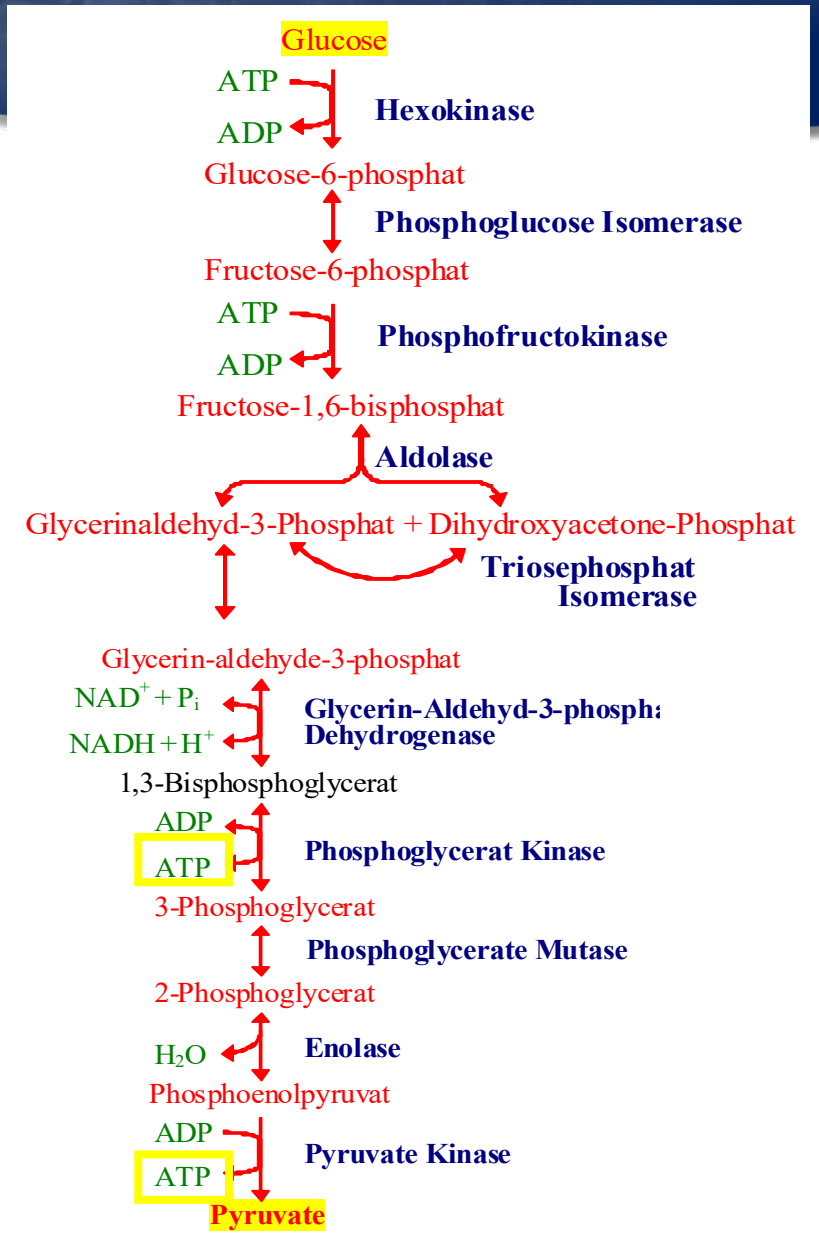
Thema der Vorlesung

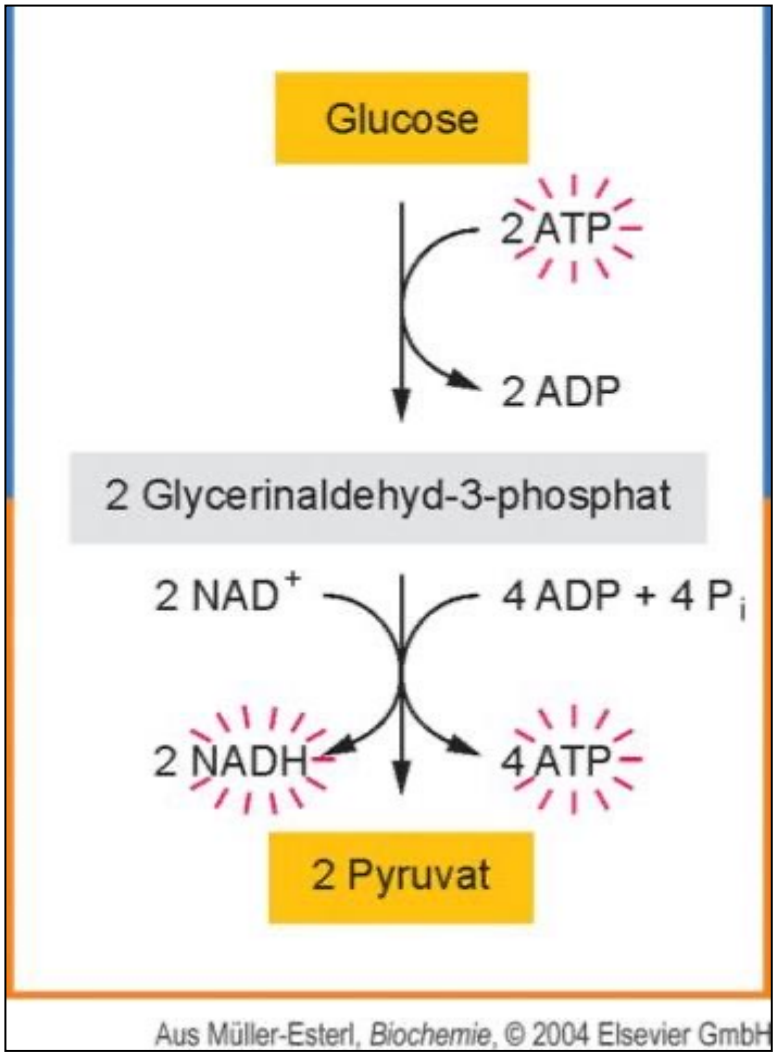


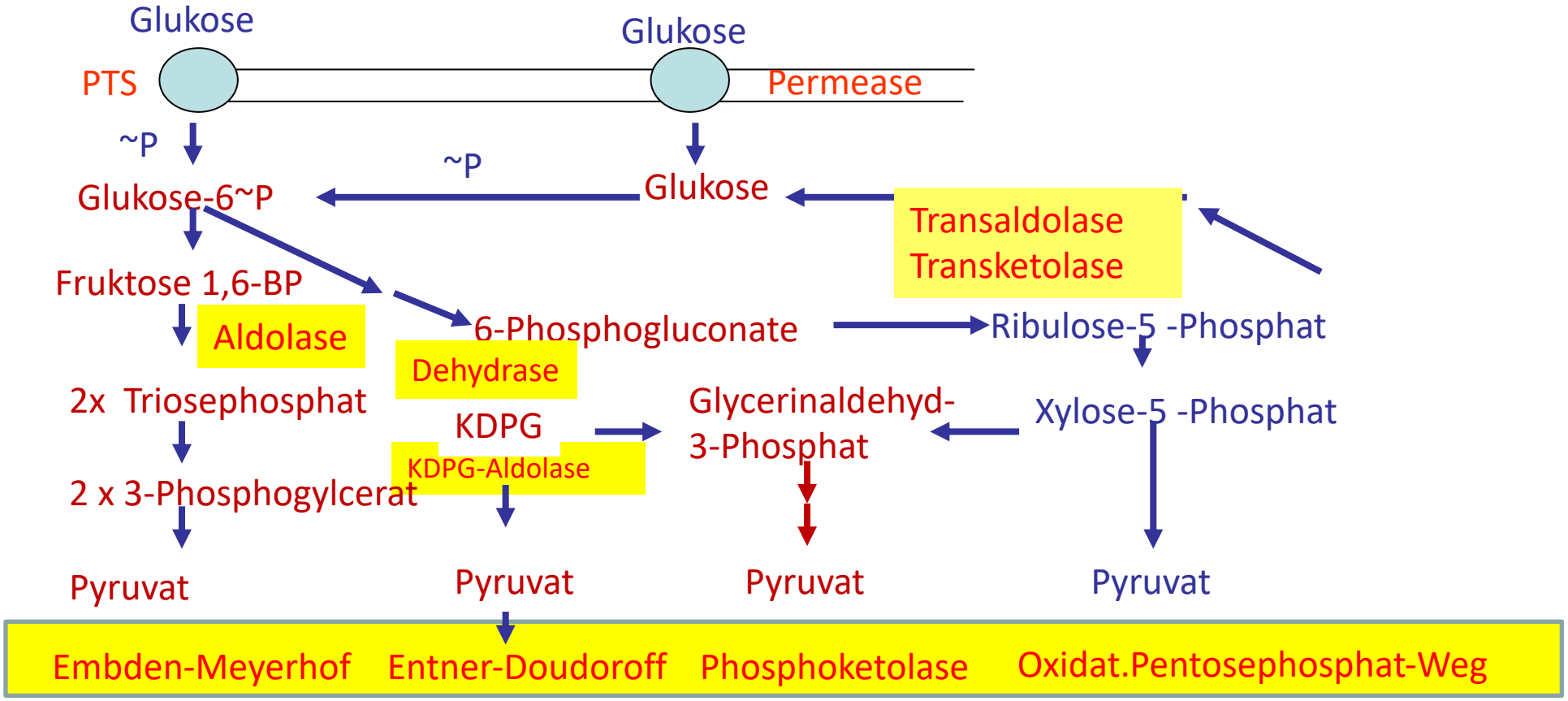
Aerober Stoffwechsel

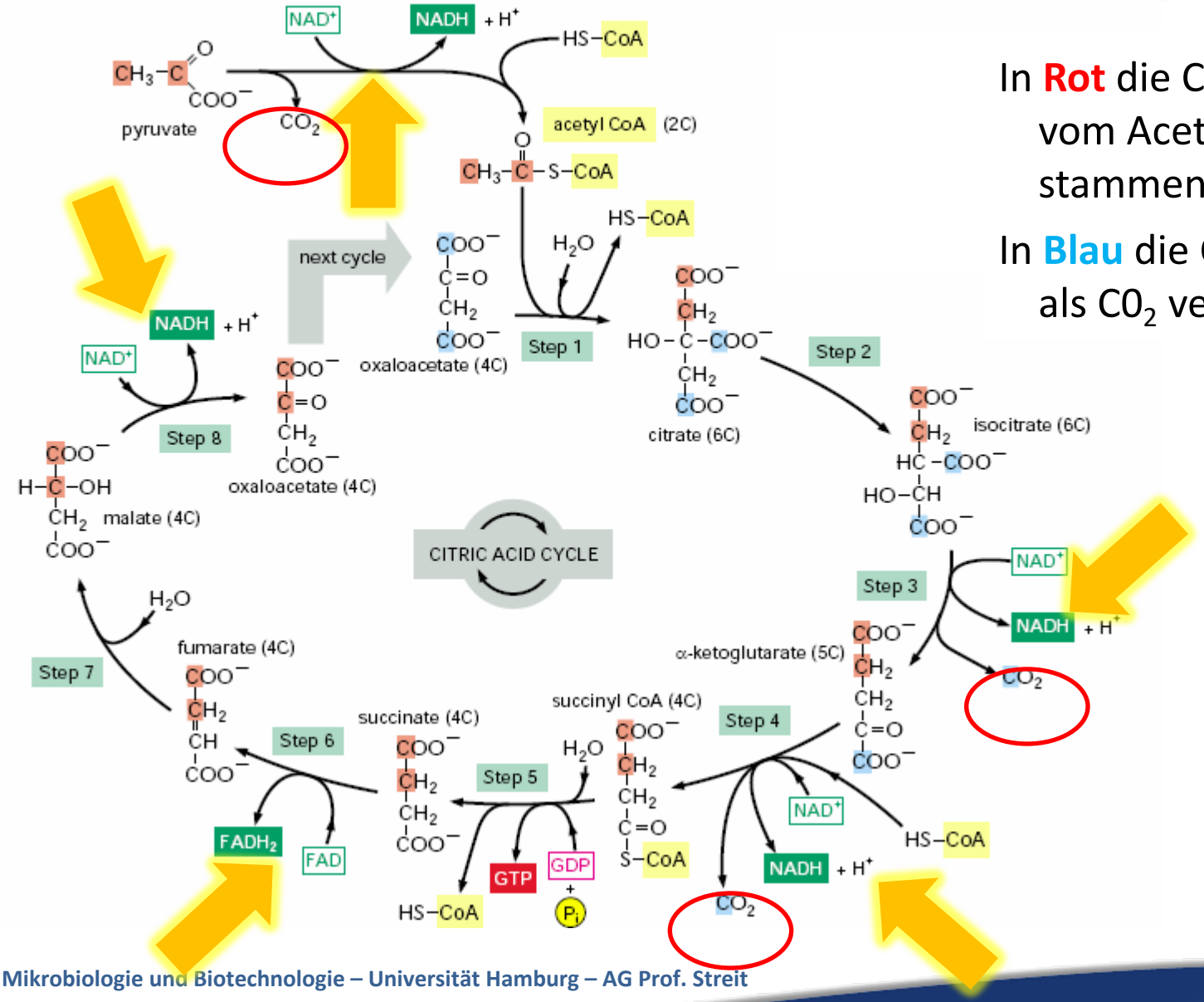
Glykolyse, und andere Stoffwechselwege
Citrat-Zyklus
Atmungskette/verzweigte Atmungsketten


Polymer
H_2O
Monomer / Oligomer
Substrataktivierung
Zentrale Intermediate
Allg. Bausteine
Acetyl-CoA
CO_2
ATP
SSP
e-Akzeptor ox.
ATP
eAkzeptor red.
Oxidat. Teil
n[H]
red. Teil
ETP


Glucose
ATP
ADP
Hexokinase
Glucose-6-phosphat
Phosphoglucose Isomerase
Fructose-6-phosphat
ATP
ADP
Phosphofructokinase
Fructose-1,6-bisphosphat
Aldolase
Glycerinaldehyd-3-Phosphat + Dihydroxyacetone-Phosphat
Triosephosphat Isomerase
Glycerin-aldehyde-3-phosphat
NAD+ + Pi
NADH + H+
Glycerin-Aldehyd-3-phosph
Dehydrogenase
1,3-Bisphosphoglycerat
ADP
ATP
Phosphoglycerat Kinase
3-Phosphoglycerat
Phosphoglycerate Mutase
2-Phosphoglycerat
H2O
Enolase
Phosphoenolpyruvat
ADP
ATP
Pyruvate Kinase
Pyruvate


Glucose
2 ATP
2 ADP
2 Glycerinaldehyd-3-phosphat
2 NAD+
4 ADP + 4 Pi
2 NADH
4 ATP
2 Pyruvat
Aus Müller-Esterl, Biochemie, © 2004 Elsevier GmbH


Glukose
Glukose
PTS
Permease
~P
~P
Glukose-6~P
Glukose
Transaldolase
Transketolase
Fruktose 1,6-BP
Aldolase
6-Phosphogluconate
Dehydrase
Ribulose-5 -Phosphat
2x Triosephosphat
KDPG
Glycerinaldehyd-
3-Phosphat
Xylose-5 -Phosphat
KDPG-Aldolase
2 x 3-Phosphogylcerat
Pyruvat
Pyruvat
Pyruvat
Pyruvat
Embden-Meyerhof
Entner-Doudoroff
Phosphoketolase
Oxidat.Pentosephosphat-Weg
2 Pyruvat
2ATP
2NADH
2 Pyruvat
1 ATP
1NADH
1 NADPH
Acetylphosphat,
Pyruvat, CO_2
1 ATP
2 NADPH
1 NADH
3 CO_2, Pyruvat
1 ATP
6 NADPH
1 NADH



In **Rot** die C-Atome, die vom Acetyl-CoA stammen

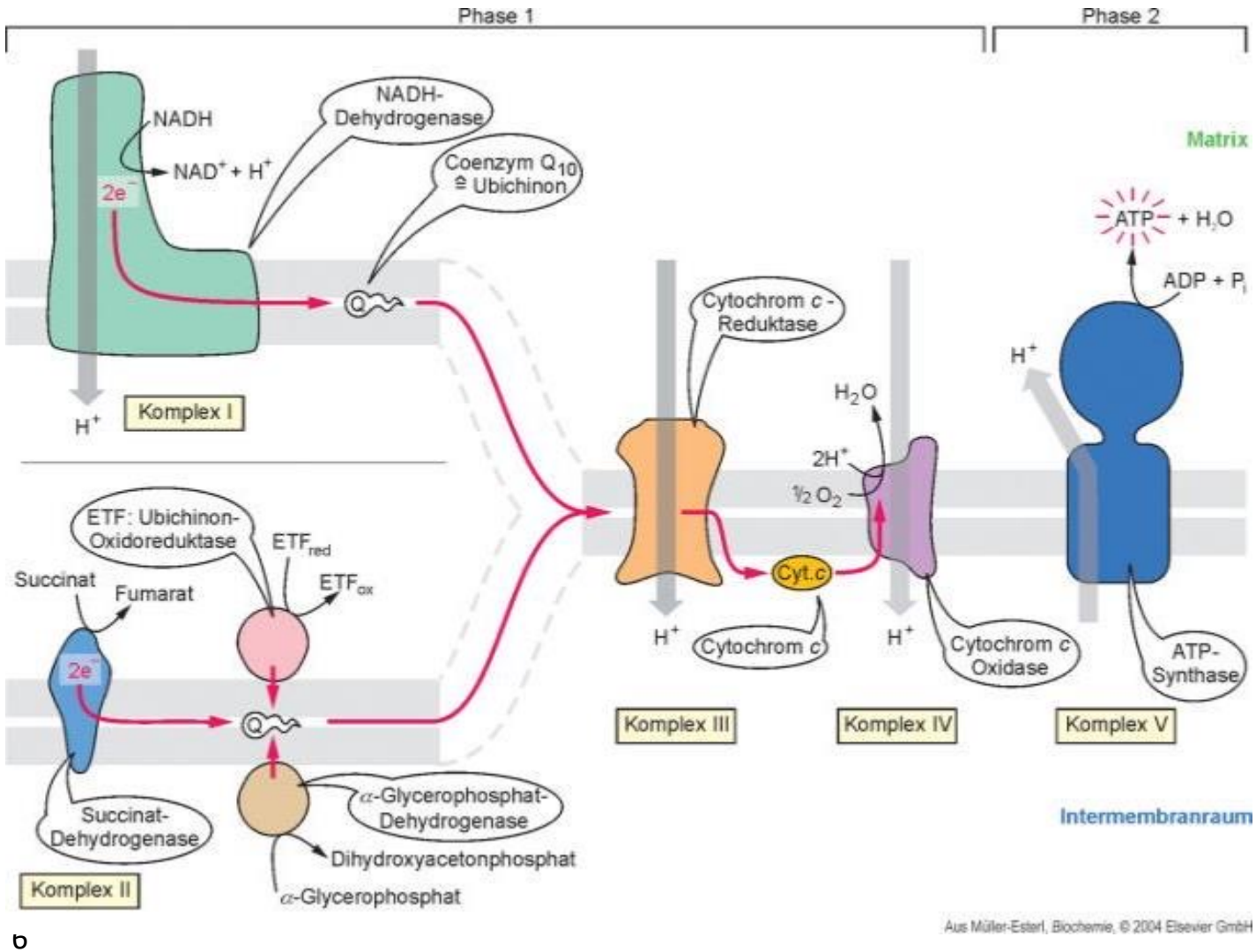
In **Blau** die C-Atome, die als $C0_2$ verloren gehen

Bilanz:

5 x [H] +H⁺

3 x CO2

1 x ATP (GTP)



Aus Müller-Esterl, Biochemie, © 2004 Elsevier GmbH

Weg der Elektronen (**rot**) von Komplex I bzw. von FAD-abhängigen Dehydro-genasen wie z.B. Komplex II über die Komplexe III und IV sowie die mobilen Elektronenüberträger Coenzym Q und Cytochrom *c* auf Sauerstoff

Komplex V kondensiert ADP und Pi zu ATP

Graue Pfeile: Protonen-transport über die innere mitoch. Membran

ETF: *electron transferring flavoprotein*

Bilanz Glycolyse und Atmungskette

Glycolyse: 2NADH

Pyruvatdehydrogenase-Reaktion: 2NADH

Citratcyclus: 6 (5) $NADH_2$ plus 2 QH_2 aus Succinat-Dehydrogenase

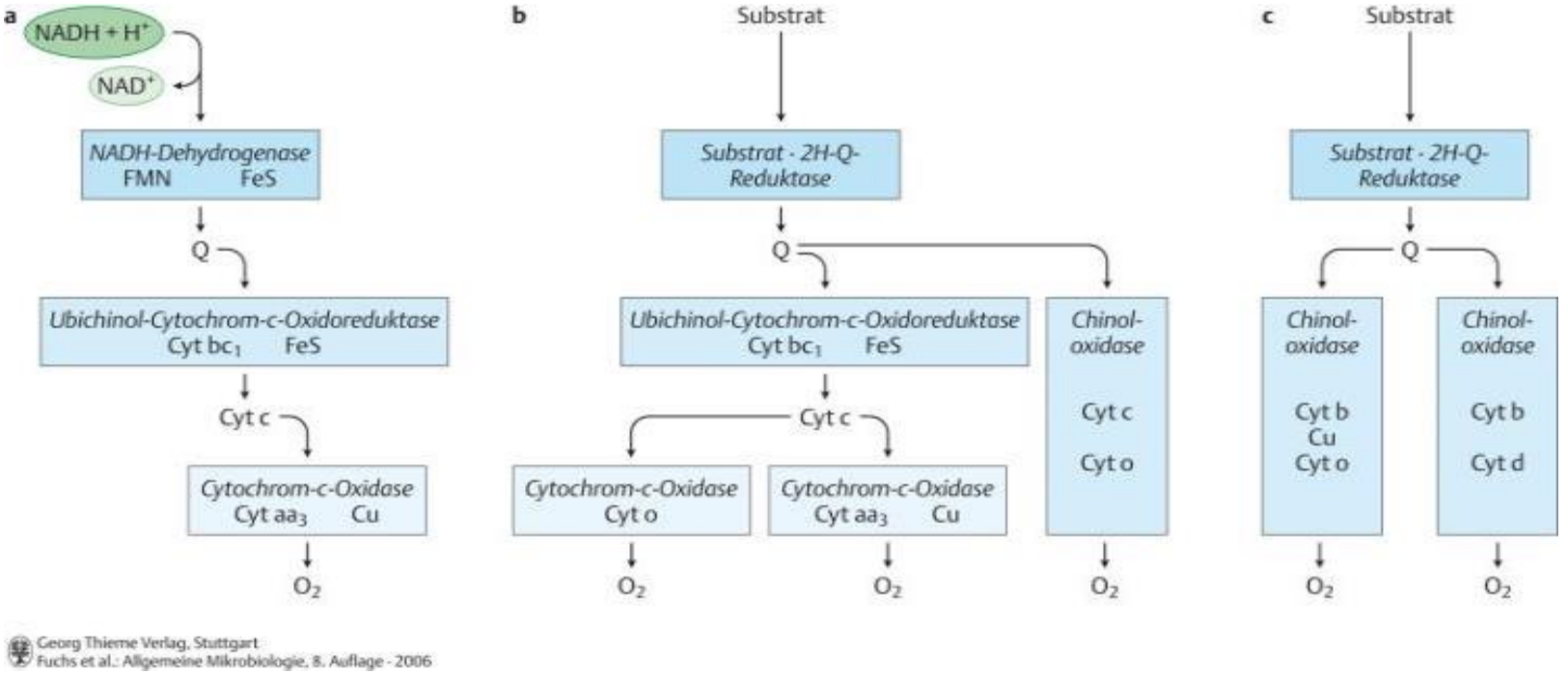
∑ 10-14 $NADH_2$ und 2 QH_2

Ca. 112 H^+ über die Membran transloziert

Bei 4 H^+ pro ATP etwa 28 ATP pro Citratcylcus plus 4 aus der Glycolyse

Summe ca. 32 Mol ATP/Mol Glucose

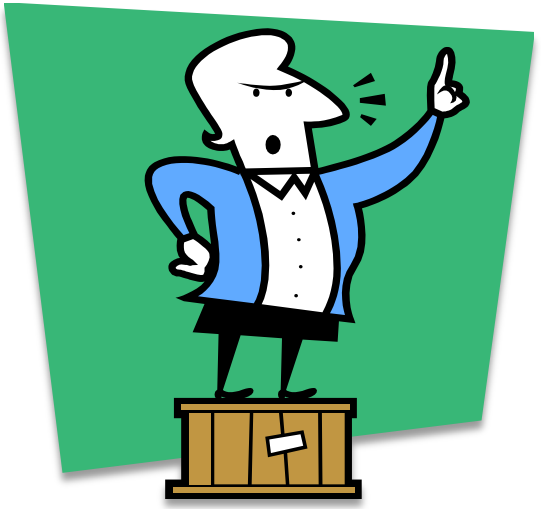
Verzweigte Atmungsketten bei *Paracoccus denitrificans* und vielen anderen MO



Mensch *P. denitrificans* *B. japonicum*

Aerober Stoffwechsel

Abbau komplexer Substrate und Polymere



Wichtige Substrate und Polymere

Mono- und Di-Saccharide

einfache C-Säuren

Peptide

Aromaten

Nucleotide, Nucleoside,
Heterocyl Verbindungen

Und viele andere.

In der Natur natürlich oft nur in sehr geringen Konzentrationen ($<10^{-6}$M) verfügbar!!

Polymere:
Stärke (α-1,4- und α-1,6- glycosd. verbundene Glucose)
Pullulan (α-1,6- glycosd. verbundene Glucose)

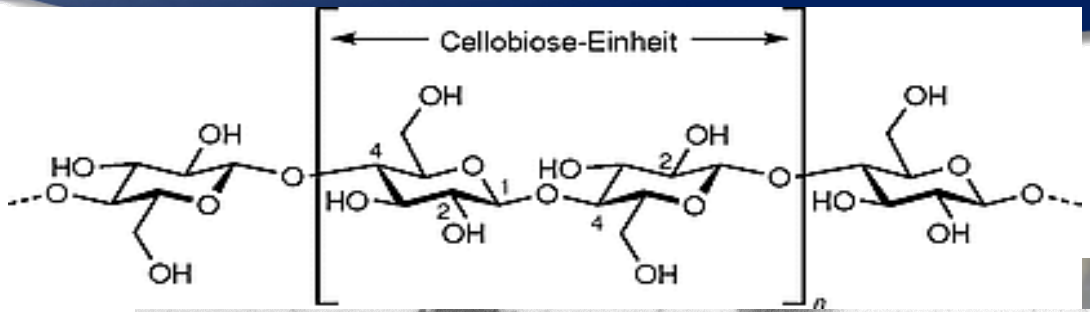
Cellulose (ß-1,4- glycosd. Verbundene Glucose)
Hemicellulose
Lignocellulose
Alginate
Chitin
Lipide
Proteine
Nukleinsäuren
N-Alkane
PHB-ähnliche Polymere (Bioplastik)

Synthetische Polymere (Plastik)

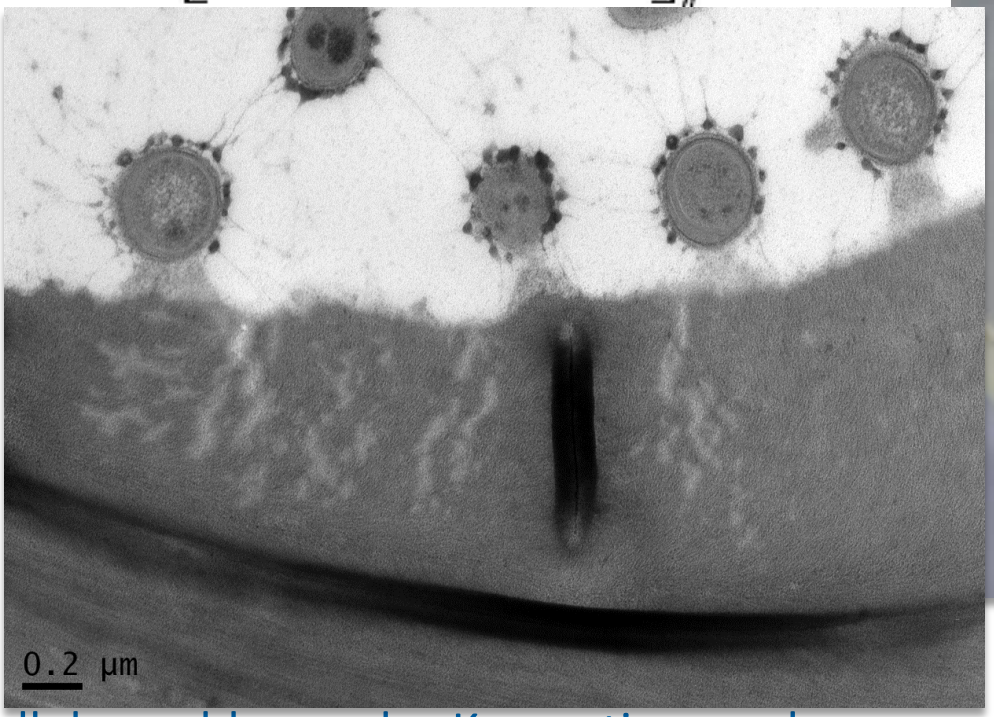
.....und viele andere.

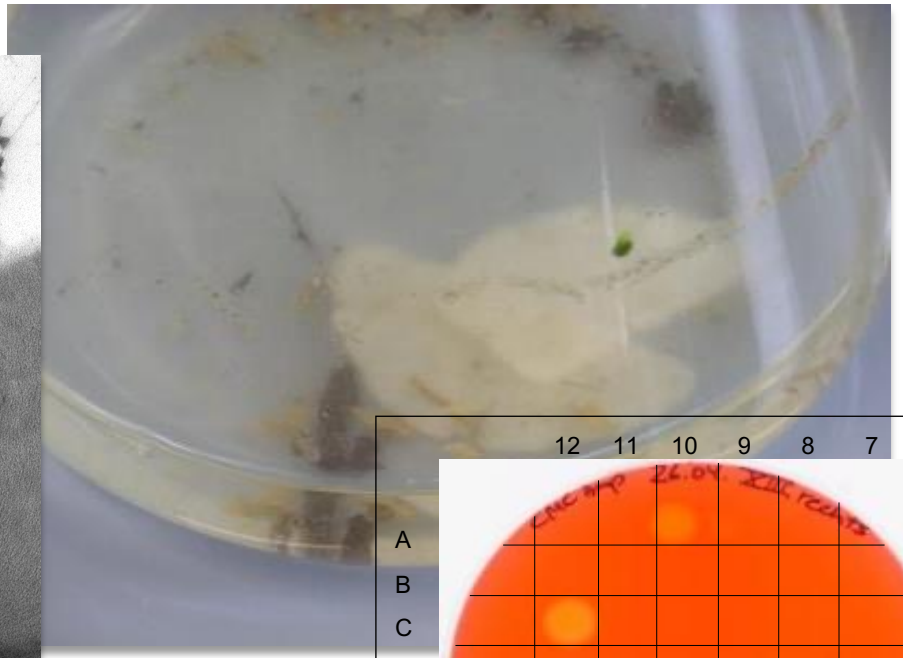
Polymere werden durch Enzyme gespalten:
Meist sind es Hydrolasen, Oxygenasen, Lyasen...

EC 1.-.-.-	Oxidoreduktasen	Redoxreaktionen	Dehydrogenasen Hydrogenasen Oxidasen Oxygenasen Hydroxylasen	NAD^+, $NADP^+$, FAD, FMN, Liponsäure
EC 2.-.-.-	Transferasen	Übertragung einer funktionellen Gruppe	Acyltransferasen Aminotransferasen Phosphotransferasen	S-Adenosylmethionin, Biotin, cAMP, ATP, Thiamin-Pyrophosphat (TPP), Tetrahydrofolsäure
EC 3.-.-.-	Hydrolasen	hydrolytische Spaltung	Amylasen Esterasen Lipasen Phosphatasen Peptidasen	Benötigen meist keine Coenzyme
EC 4.-.-.-	Lyasen	Nicht-hydrolytische Addition/Eliminierung von Molekülgruppen	Decarboxylasen Aldolasen Synthasen	TPP, Pyridoxalphosphat
EC 5.-.-.-	Isomerasen	intramolekulare Isomerisierung	Razemasen Mutasen	Glucose-1,6-bisphosphat, Cobalamin
EC 6.-.-.-	Ligasen	kovalente Verknüpfung	Synthetasen Carboxylasen	ATP, NAD^+, Biotin
EC 7.-.-.-	Translokasen	Transporter		

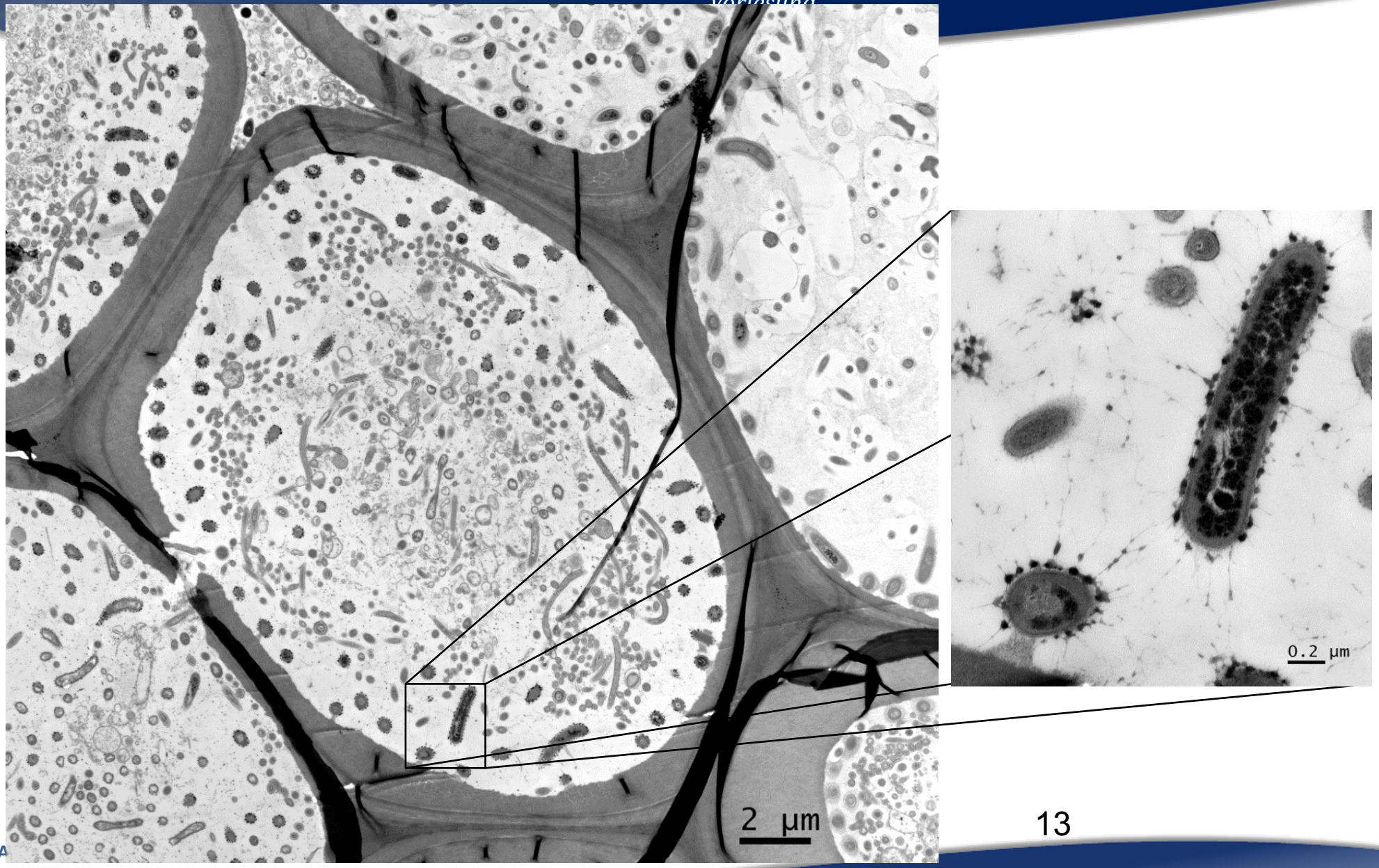


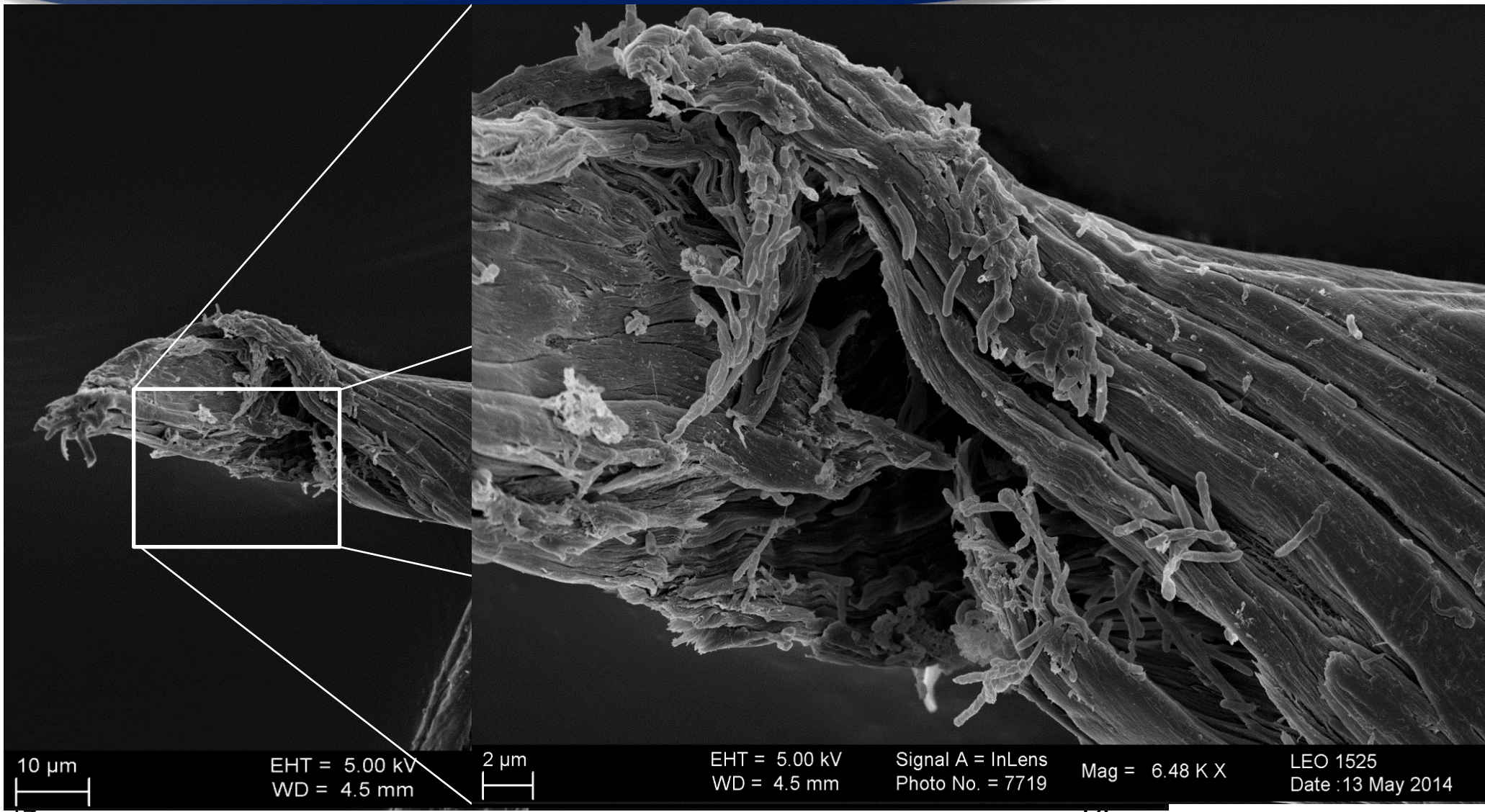
durchlichtelektronenmikroskopische Aufnahme der Anheftung von Cellulose verdauenden Bakterien – *Sporocytophaga myxococcoides* – an Cellulosefasern



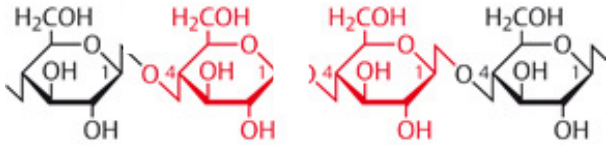


Cellulose-abbauendes Konsortium und rekombinante *E. coli* mit Cellulaseaktivität auf Indikatorplatte

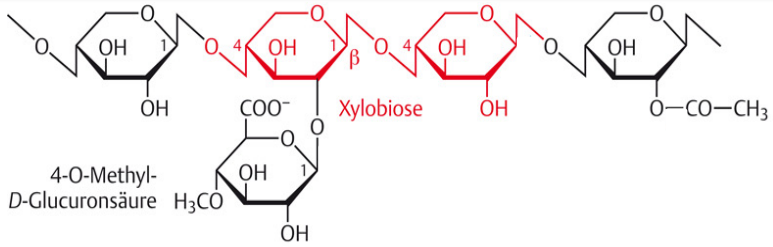

2 µm
0.2 µm

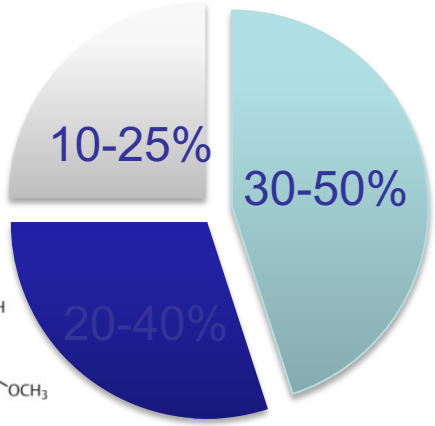

10 µm
EHT = 5.00 kV
WD = 4.5 mm
2 µm
EHT = 5.00 kV
WD = 4.5 mm
Signal A = InLens
Photo No. = 7719
Mag = 6.48 K X
LEO 1525
Date :13 May 2014

Cellulose: ß,1-4 Glucose polymers

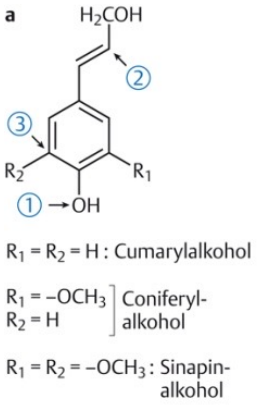


Hemicellulose, mixed polymers of:





Hexoses: Polymers of Glucose, Mannose, Galactose
Pentoses: Arabinose and Xylose
Uronic acids: Glucuronic-, Methylglucuronic-, Galacturonic acids
Also methyl -and acetyl residues linked via ether and ester bonds



Polymers of cumaryl-, coniferyl- and sinapylalcohols

Georg Thieme Verlag, Stuttgart
Fuchs et al.: Allgemeine Mikrobiologie, 8. Auflage · 2006

Enzymes acting on cellulose

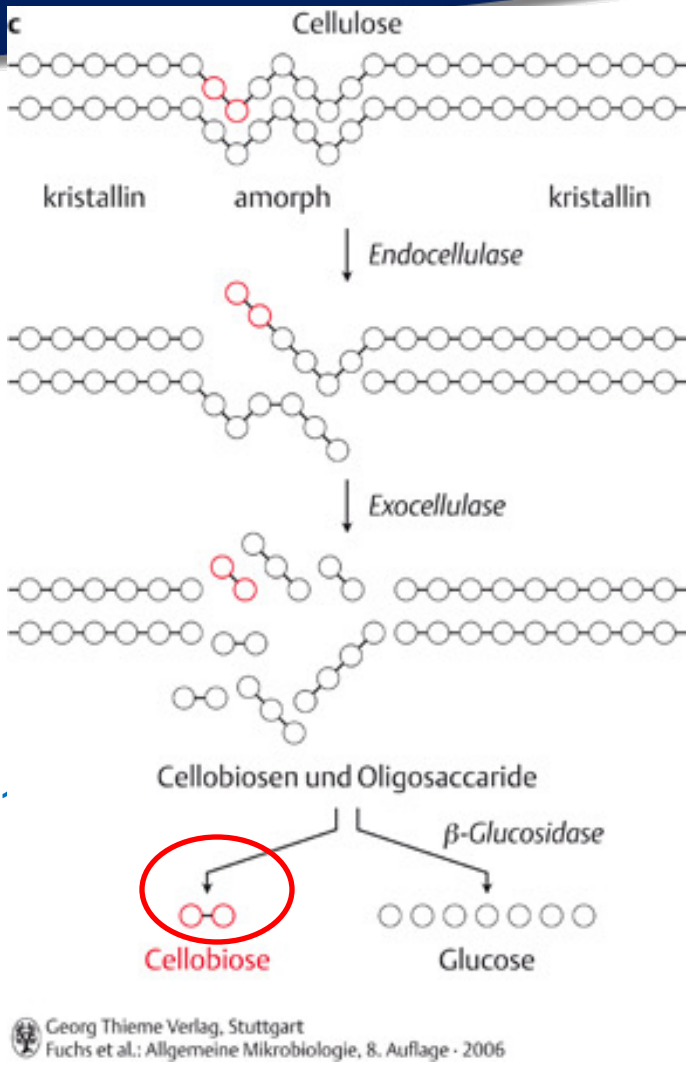
Glycoside hydrolases (EC 3.2.1.-)
Hydrolysis of the glycosidic bond ;
14 families with cellulase activities

Mainly 3 types of enzymes:

- Endocellulase, Endoglucanase (EC 3.2.1.4)
  Endohydrolysis of (1->4)-beta-D-glucosidic linkages in cellulose, lichenin and cereal beta-D-glucans

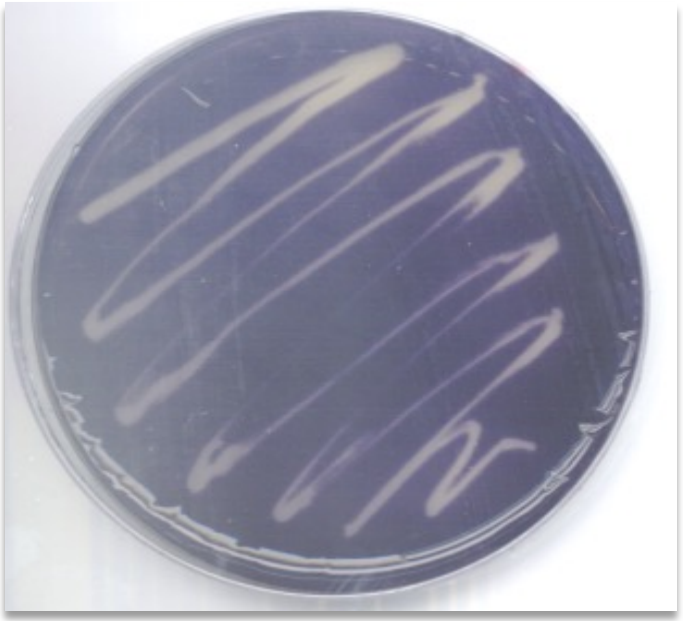
- Exoglucanase, Excocellulase, Cellobiohydrolase (EC 3.2.1
  Hydrolysis of 1,4-beta-D-glucosidic linkages in cellulose and cellotetraose, releasing cellobiose from the non-reducing ends of the chains; also called avicellase

- ß-Glucosidase (EC 3.2.1.21 and others)
  Hydrolysis of terminal, non-reducing beta-D-glucose residues with release CA of beta-D-glucose



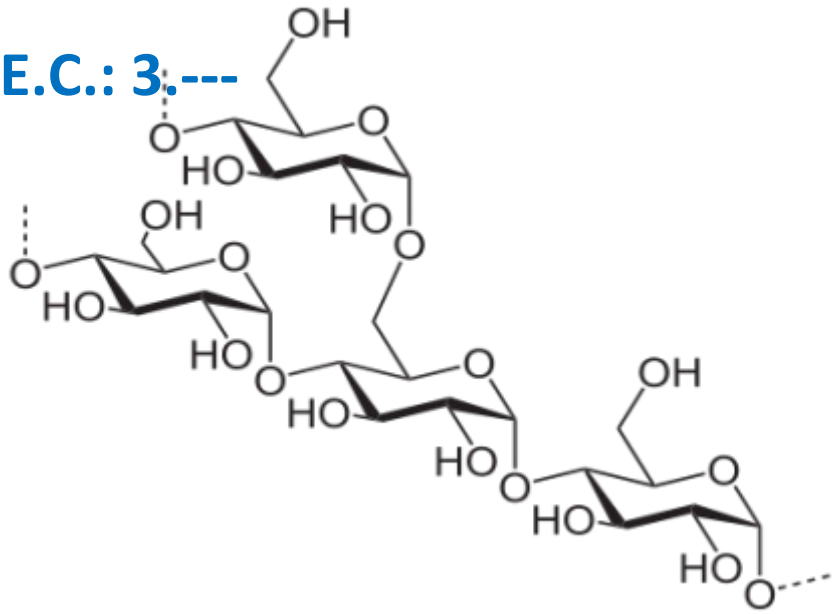
Georg Thieme Verlag, Stuttgart
Fuchs et al.: Allgemeine Mikrobiologie, 8. Auflage · 2006

Stärkehydrolyse durch Bakterien

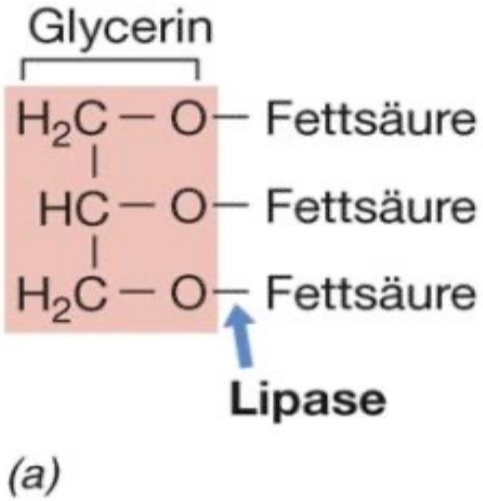


Spaltung der α-, 1-4- und 1-6- Bindungen bis hin zur Maltose durch Amlylasen, Pullulanasen, Maltasen etc.

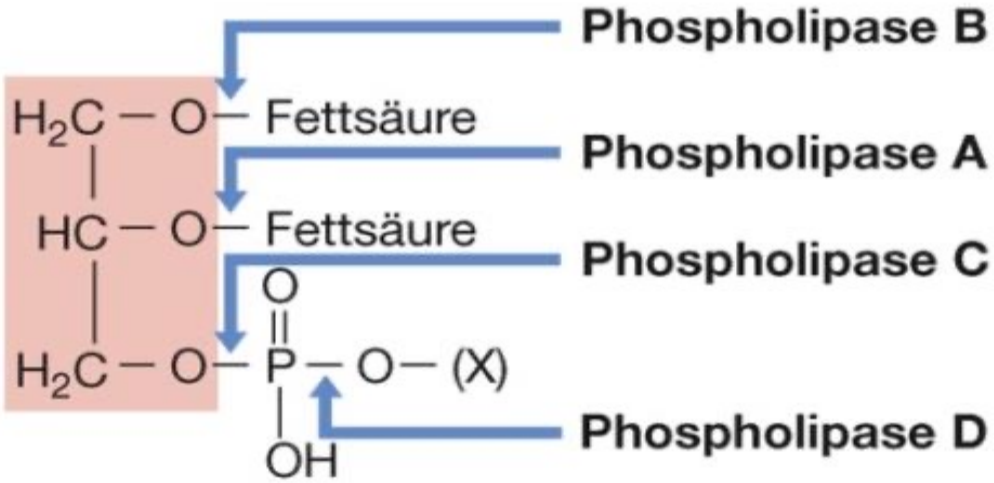
Hydrolasen, E.C.: 3.---



Stärke: α-1,4 und α-1,6 verknüpfte Polymer
Pullulan α-1,6-er Bindungen



(a)



(b)

Lipasen (EC: 3.1.--)

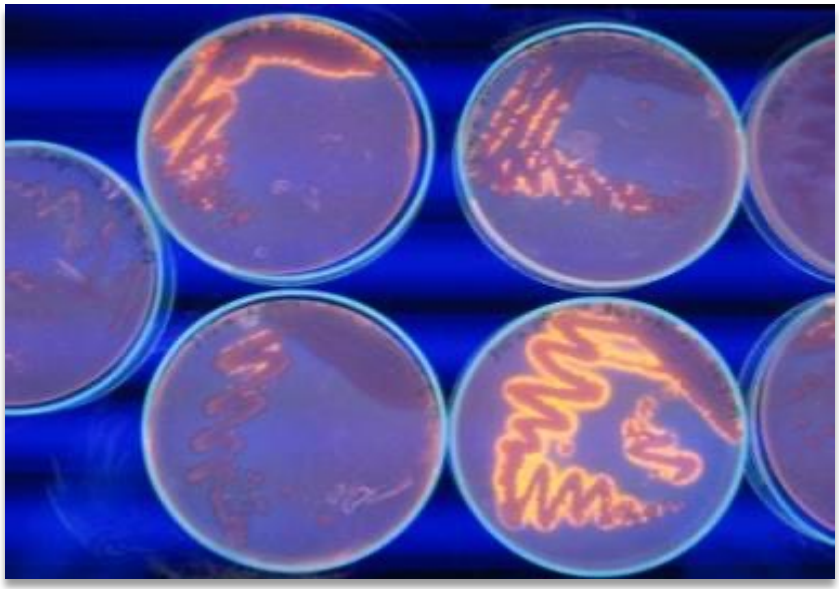
(a) Aktivität von Lipase auf einem Fett

(b) Phospholipaseaktivität auf Phospholipid

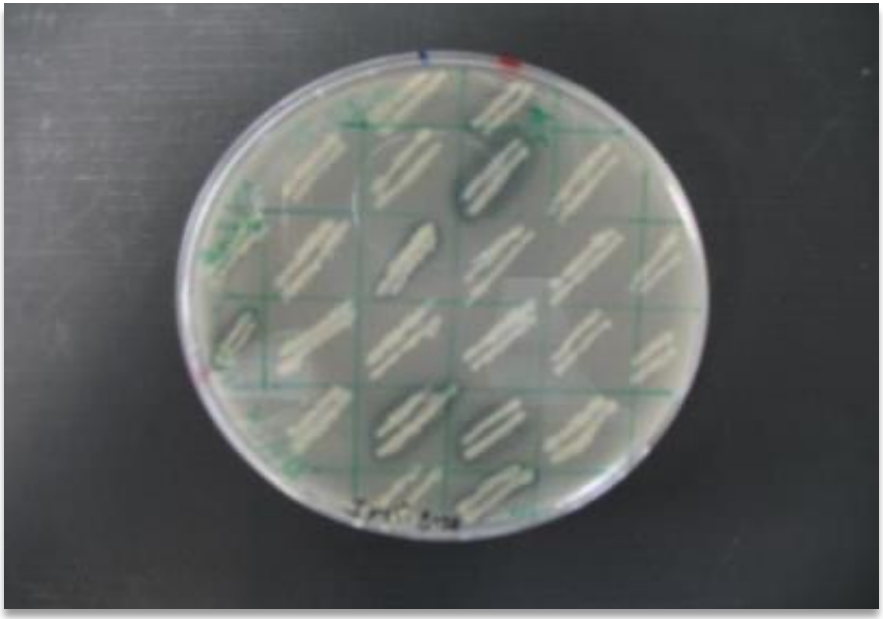
die Schnittstellen der vier distinkten Phospholipasen A, B, C und D sind gezeigt

X bezieht sich auf eine Zahl von kleinen, organischen Molekülen, die in verschiedenen Phospholipiden an dieser Position sein können

Lipasen



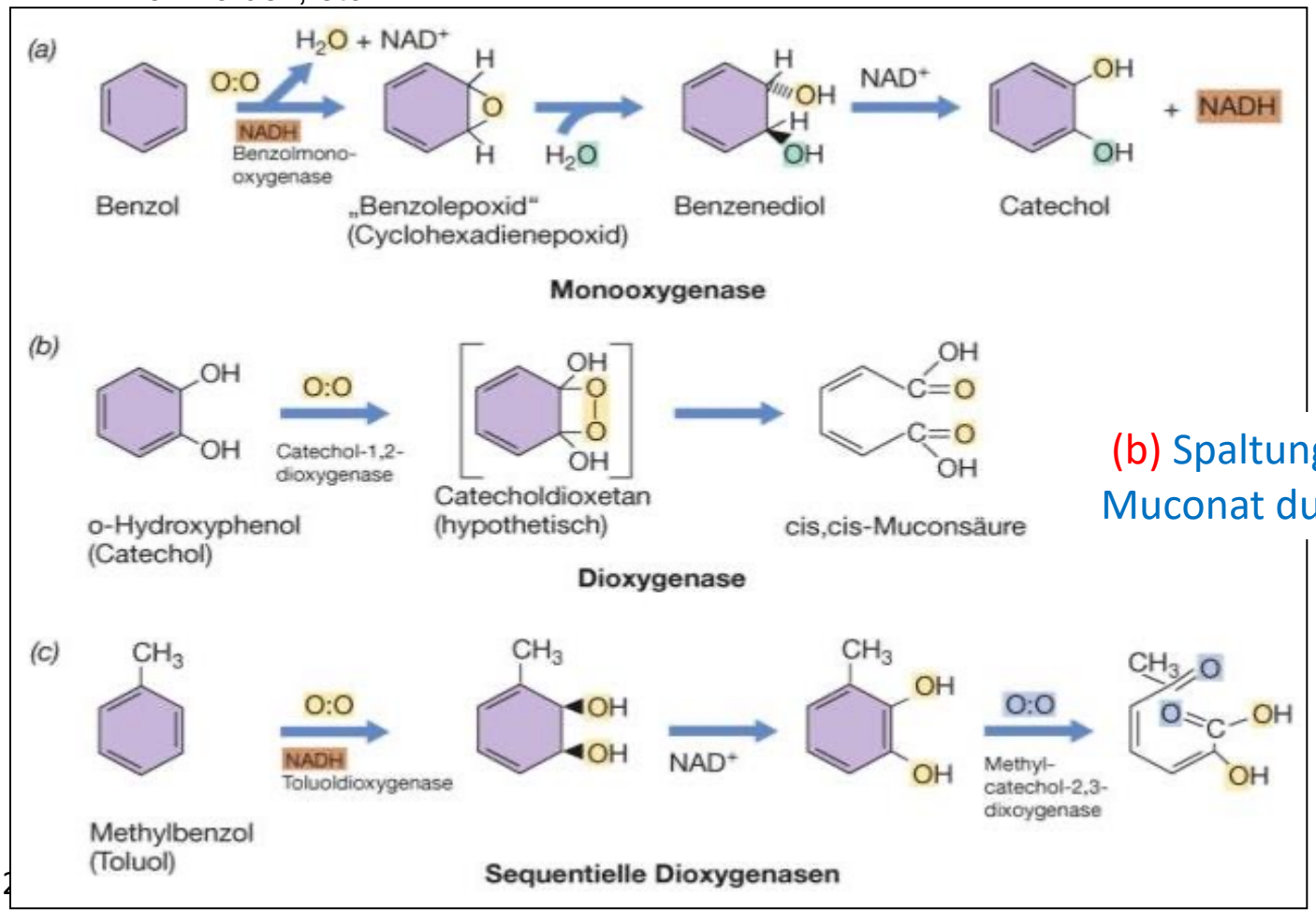
Lipaseaktivität von thermophilen Bacilli
u.a.



rekombinante *E.coli* mit Lipase
das Substrat ist Tri-Olein

z.B. nach Tankerunfällen
Exxon Valdez, etc.

Oxygenasen als zentrale Tools zum Abbau aromatischer Verbindungen

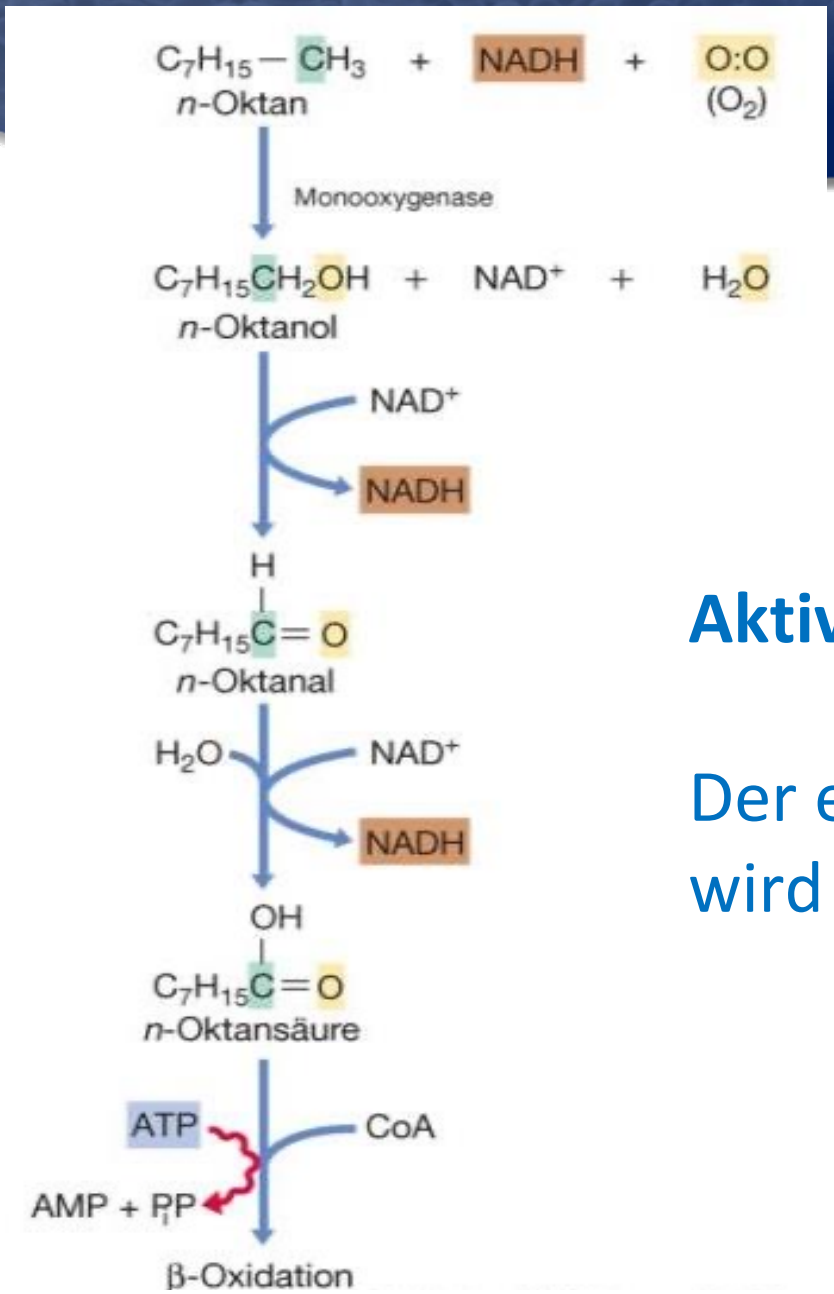


(a) Hydroxylierung des Benzols zum Catechol (1,2-Dihydroxybenzol) durch eine NAD-H abhängige Mono-oxygenase

(b) Spaltung des Catechols zu *cis,cis*-Muconat durch eine Dioxygenase

(c) Dioxygenase-Reaktion

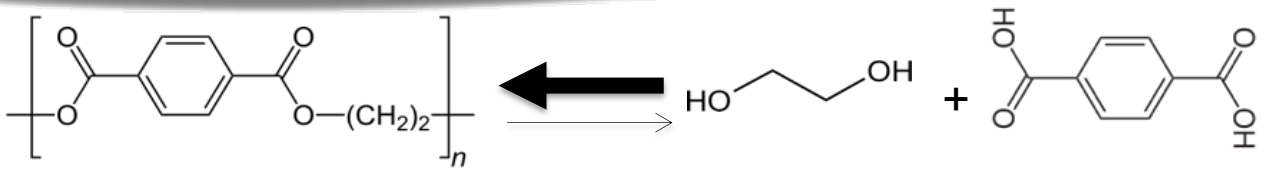
Abbau von Alkanen



Aktivität von Monooxygenasen

Der erste Schritt beim Abbau von Alkanen wird von einer Monooxygenase katalysiert

PETase & MHETase
(3.1.1. Esterasen; Hydrolasen)



Polyethylenterephatlate

Ethylengcol +Terepthalic acid

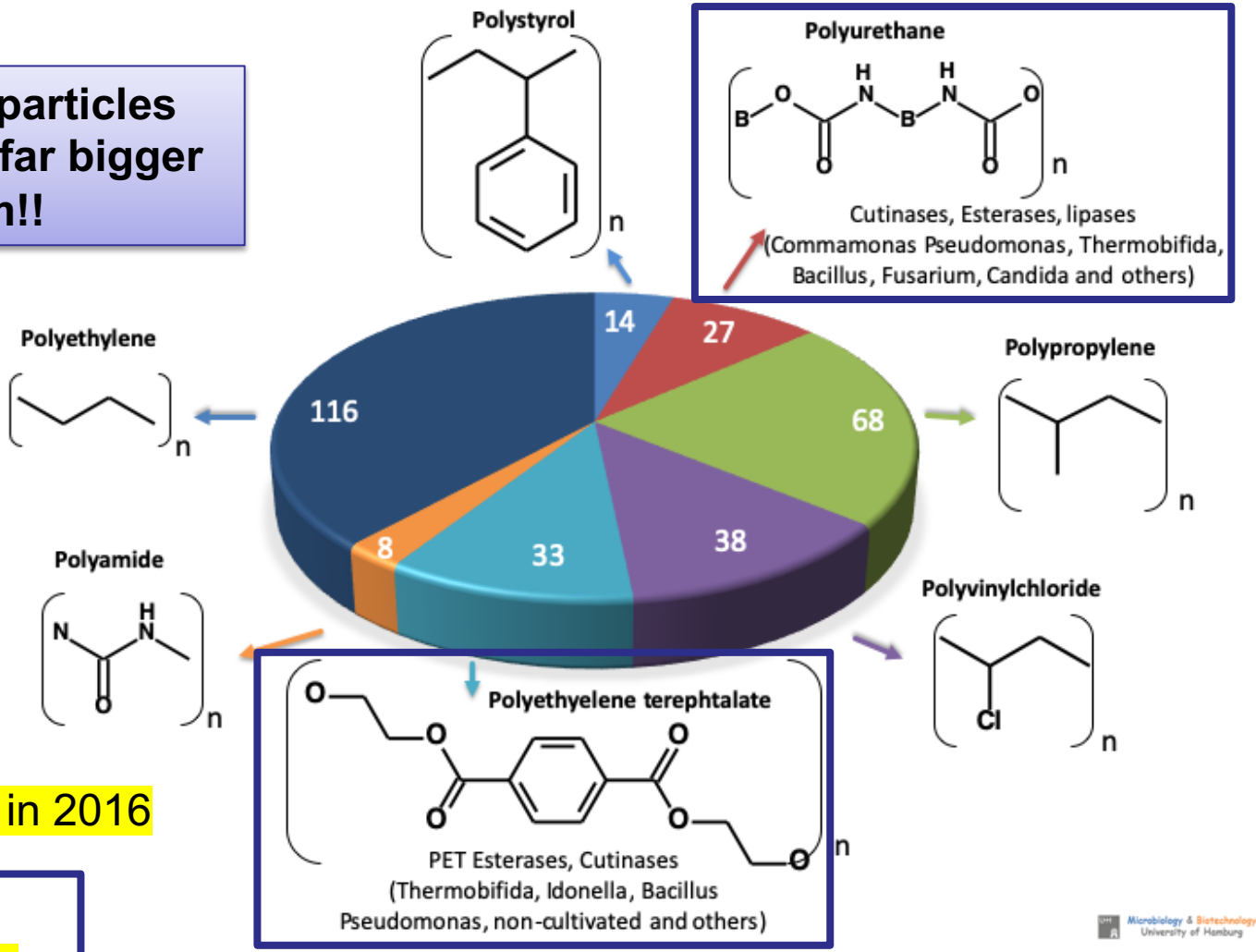
Nano- und Mikro-Partikel sind das Problem !

Polyurethan	(PU)
Polyamid	(PA)
Polyethylen	(PE)
Polyvinylchlorid	(PVC)
Polyvinyl	(PV)

Plastik: synthetische Polymere sind nur sehr sehr sehr langsam abzubauen!!

für die meisten Kunststoffe gibt es keine aktiven Enzyme oder Organismen, die die Bindungen knacken können!!

>5 mm particles are the far bigger problem!!



Hauptpolymere in Mio Tonnen in 2016

Enzyme für den Abbau vorhanden

Danso et al., 2019 AEM, DOI: 10.1128/AEM.01095-19